



TITLE:

ホヤ胚におけるBMP関連遺伝子の
発現様式とその機能(Abstract_要
旨)

AUTHOR(S):

宮, 隆史

CITATION:

宮, 隆史. ホヤ胚におけるBMP関連遺伝子の発現様式とその機能. 京都大学, 1997, 博士(理学)

ISSUE DATE:

1997-03-24

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/202458>

RIGHT:

氏 名	みや 隆 史
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	理 博 第 1834 号
学位授与の日付	平 成 9 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	理 学 研 究 科 動 物 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	ホヤ胚における BMP 関連遺伝子の発現様式とその機能

(主 査)
論文調査委員 教 授 佐 藤 矩 行 教 授 西 田 利 貞 教 授 米 井 脩 治

論 文 内 容 の 要 旨

脊索動物のホヤは典型的なモザイク的発生を行う動物と考えられてきたが、最近になってホヤ幼生の神経や脊索の分化には誘導による細胞間相互作用が必要なことが示されている。しかしながら誘導因子の分子の実体についてはほとんど解析されていない。本論文では、脊椎動物において背腹軸の形成や神経分化に関わると考えられている骨形成因子 (BMP) ファミリーの遺伝子に着目し、脊椎動物とは発生様式が幾分異なると考えられているホヤ胚における BMP 遺伝子の発現と機能についての解析を行っている。

申請者はまず、PCR 法を駆使してマボヤから 2 種類の BMP 関連遺伝子 *HrBMPa* と *HrBMPb* の cDNA クローンを単離した。これらの cDNA クローン的全塩基配列を決定し、そこから予想されるアミノ酸配列の類似性から、*HrBMPa* は脊椎動物の *Bmp-5~8* およびショウジョウバエの 60A, *screw* などの遺伝子を含む 60A サブクラスに、また *HrBMPb* は脊椎動物の *Bmp-2/4* およびショウジョウバエの *decapentaplegic* などの遺伝子を含む DPP サブクラスにそれぞれ属することがわかった。次にこの 2 種類のマボヤ遺伝子の発生における発現パターンを解析した結果、(1)マボヤの 60A サブクラス BMP 遺伝子である *HrBMPa* は、脊椎動物の 60A サブクラス遺伝子 *Bmp-7* とよく対応した発現パターンを示し、先ず初めに囊胚の表皮細胞および神経細胞で発現し、ついで初期尾芽胚では予定付着突起、正中線に沿った表皮細胞および神経細胞で発現すること、(2)マボヤの DPP サブクラス遺伝子である *HrBMPb* は、初め囊胚の予定神経索細胞で発現を開始し、その後初期尾芽胚では *HrBMPa* と同様に予定付着突起、正中線に沿った表皮細胞および神経細胞で発現することを明らかにした。

申請者は次に、これらのホヤ BMP 関連遺伝子の機能を解析するために、*HrBMPa* および *HrBMPb* cDNA クローンから合成 mRNA を作製し、それぞれをマボヤ受精卵へ顕微注入する実験を行い、まずマボヤの DPP サブクラス遺伝子である *HrBMPb* がゼノパスの腹側化を誘導できることを示した。すなわち *HrBMPb* は、脊椎動物の DPP サブクラス遺伝子との間で、単に構造的だけではなく機能的にも保存されていることを示す。さらに、申請者は同様の実験から、*HrBMPb* 遺伝子はホヤの外胚葉の神経分化

を阻害して表皮細胞分化を誘導することを明らかにした。しかし、*HrBMPb* mRNA の顕微注入はゼノパスの腹側化を誘導できるにも関わらず、ホヤでは中胚葉の分化に大きな影響を与えないことがわかった。一方、同様の機能解析から、*HrBMPa* 遺伝子が *HrBMPb* 遺伝子と協調的に働くことを示唆する結果が得られた。

また本論文では、BMP 関連遺伝子の機能解析に先立ち、神経細胞のマーカーとしてマボヤの β チューブリン遺伝子 cDNA の単離も行っており、得られた遺伝子 *HrTBB2* は神経板期から胚の予定神経細胞で発現しており、神経細胞の分化マーカーとして有用であることを示している。

論文審査の結果の要旨

最近になって、動物の体づくりにさまざまな分泌性のタンパク質が重要な働きをすることが明らかにされている。脊索動物のホヤ卵は古くから典型的なモザイク卵とされ、その体づくりは主として卵細胞質に存在する母性因子によって支えられていると考えられてきたが、近年になってホヤ幼生の神経や脊索の分化にも細胞間相互作用が必須であることが示されている。しかしながらその細胞間相互作用の分子の実体についてはほとんど解析されていなかった。申請者は本論文において、脊椎動物のパターン形成や神経分化に関わると考えられている TGF- β スーパーファミリーの一つ骨形成因子 (BMP) ファミリーの遺伝子に着目し、ホヤ胚における BMP 遺伝子の発現と機能についての解析を行っており、本論文がホヤにおける初めての本格的な解析といえる。

申請者はまず PCR 法を駆使してマボヤから 2 種類の BMP 関連遺伝子 *HrBMPa* と *HrBMPb* の cDNA クローンを単離した。これらの cDNA クローンから予想されるアミノ酸配列の比較から、*HrBMPa* は脊椎動物の *Bmp-5*~*8* などの遺伝子を含む 60A サブクラスに、また *HrBMPb* は脊椎動物の *Bmp-2/4* などの遺伝子を含む DPP サブクラスに属すること、*HrBMPa* は脊椎動物の *Bmp-7* と、*HrBMPb* は脊椎動物の *Bmp-2/4* とよく対応した発現パターンを示し、尾芽胚では正中線に沿った表皮細胞および神経細胞で発現することを明らかにした。これらの研究結果は、細胞の系譜が明らかにされているホヤ胚の特徴を十分に生かした明確な結果である。

申請者はさらに、これらのホヤ BMP 遺伝子の機能を解析するために、両遺伝子の合成 mRNA を受精卵へ顕微注入し、*HrBMPb* はゼノパス胚の腹側化を誘導できることを示した。これは、尾索類ホヤの遺伝子が脊椎動物ゼノパスでも機能することを示した初めての研究成果である。*HrBMPb* 遺伝子はこのようにゼノパスの腹側化を誘導できるにも関わらずホヤの中胚葉の分化には関与せず、しかし神経分化を阻害して表皮細胞分化を誘導する。このことは、遺伝子の機能がある面で保存されているにも関わらず、別の局面では尾索類と脊椎動物では異なった働きをすることを示唆する重要な結果である。このように申請者の研究能力は極めて高いと判断された。

また、主論文および参考論文に報告されている研究業績を中心として、これに関連した研究分野について議論した際にも申請者の解答は明快であった。また自身の研究の位置づけも十分なされていると判断した。よってこの論文は博士 (理学) の学位論文として価値あるものと認めた。

なお本論文および参考論文に示されている研究業績の他、関連する諸分野について試問を行った結果、

合格と認めた。